DARSTELLUNG VON REINER L–ERYTHRULOSE

INAUGURALDISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

Bertfried Matz

Saarbrücken

1974

AUS DER FACHRICHTUNG PHYSIOLOGISCHE CHEMIE
DES FACHBEREICHS 3 -THEORETISCHE MEDIZIN-
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

DARSTELLUNG VON REINER L-ERYTHRULOSE

I N A U G U R A L D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung der Doktorwürde
der
HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

1974

vorgelegt von
Bertfried Matz
geb. am 28. Januar 1948 in Schenklengsfeld

Dekan: Professor Dr. med. G. A. JUTZLER

Referenten: Professor Dr. rer. nat. H. J. HAAS
Professor Dr. rer. nat. H. E. KELLER

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Die mündliche Promotionsprüfung wurde am 3.12.74 abgelegt.

INHALTSVERZEICHNIS

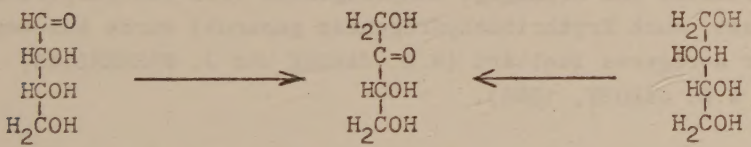
		Seite
1.	Einleitung und Themenstellung	3
2.	Beschreibung der Versuche	6
	2.1. Bakterielle Dehydrierung von meso-Erythrit	6
	2.2. Chromatographische Isolierung von L-Erythrulose	7
	2.3. Eigenschaften der gewonnenen L-Erythrulose	9
	2.4. Zurückgewinnung des bei 2.2. verwendeten Fließmittels	12
3.	Diskussion	13
4.	Zusammenfassung	16
5.	Literatur	17

1. EINLEITUNG UND THEMENSTELLUNG

Im Laufe der von R. GRETH (1972) durchgeführten Untersuchungen über die Elimination von Ammoniak durch dessen Umsetzung mit Ketosen sollte auch das Verhalten von Erythrulose geprüft werden. Da diese Ketotetrose nicht käuflich ist, mußte sie dargestellt werden.

Bei den genannten Untersuchungen waren außer Dihydroxyaceton und L-Sorbose nur Ketosen der D-Reihe eingesetzt worden. Daher lag es nahe, auch Erythrulose in Form des D-Isomeren in die Untersuchungen einzubeziehen, d.h. zu versuchen, D-Erythrulose (2) in reiner Form darzustellen.

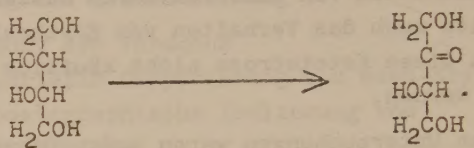
2 kann durch Umlagerung von D-Erythrose (1) mittels heißem Pyridin gewonnen werden (KIHACHIRO UEHARA, KOICHI SUGENO, TADASHI MIZOGUCHI, 1963; K. LINEK, M. FEDERONKO, S. BAUER, 1969). Nun ist 1 zwar käuflich, jedoch teuer; überdies differieren die Angaben über die bei dieser Umlagerung erzielbaren Ausbeuten an 2 sehr stark (die japanischen Autoren erhielten 0,07 g [5,4% d.Th.] 2 aus 1,3 g 1, die tschechoslowakischen Autoren 1,2 g [60% d.Th.] 2 aus 2 g 1). Ferner führt die von den beiden Arbeitsgruppen zur Identifizierung herangezogene Umsetzung mit o-Nitrophenylhydrazin zu unterschiedlichen Produkten. Daher schien es sinnvoller zu sein, zu versuchen, nicht D- sondern L-Erythrulose (5) darzustellen.



1 2 3

1971 fanden L. STANKOVIC und M. FEDERONKO, daß 2 bzw. D,L-Erythrulose durch Oxidation von D-Threit (3) bzw. meso-Erythrit (4) mit Quecksilber(II)-acetat herzustellen sind. Da diese Publikation erst 1972 bekannt wurde und die vorliegende Arbeit zu diesem Zeitpunkt bereits weit vorgeschritten

war, wurde darauf verzichtet, die Vorschrift dieser tschechoslowakischen Arbeitsgruppe nachzuarbeiten.



4 5

F. DICKENS und D.H. WILLIAMSON (1956) fanden, daß 5 bei der Einwirkung von partiell gereinigter Hefedecarboxylase auf Lithiumhydroxypyruvat entsteht. Da die Autoren experimentelle Einzelheiten, insbesondere die Isolierung des entstandenen 5 nicht angegeben haben, wurde auch in diesem Falle auf eine Nacharbeitung verzichtet.

Zur Gewinnung von 5 schien es daher am einfachsten, 4 entweder mit Hilfe von Acetobacter xylinum [Sorbosebacterium] (G. BERTRAND, 1900, 1904; H. MÜLLER, C. MONTIGEL und T. REICHSTEIN, 1937) oder Acetobacter suboxydans (R.M. HANN, E.B. TILDEN und C.S. HUDSON, 1938; R.L. WHISTLER und L.A. UNDERKOFLER, 1938) zu dehydrieren. Bei diesen Dehydrierungen entstand ausschließlich 5. Die für diese Stereospezifität verantwortliche NAD-abhängige Dehydrogenase (2,3-cis-Polyoldehydrogenase, auch Erythritdehydrogenase genannt) wurde aus Aerobacter aerogenes isoliert (W.B. JAKOBY und J. FREDERICKS, 1961; W.B. JAKOBY, 1966).

Die entstandene L-Erythrulose wurde von nicht umgesetztem 4 entweder auf dem Wege über ein Derivat oder durch fraktionierte Fällung mit Äther abgetrennt. Bei der anschließenden Destillation der L-Erythrulose (MÜLLER, MONTIGEL und REICHSTEIN; WHISTLER und UNDERKOFLER) bei 100° und 10^{-2} Torr erhielt man 5 in Form eines farblosen Sirups.
Bei der Nacharbeitung stellte sich heraus, daß die Fällung mit Äther zur Trennung von 4 und 5 ungeeignet ist, und daß

bei der Vakuumdestillation zwar eine geringe Menge sehr reiner L-Erythrulose übergeht, daß sich dabei jedoch der größte Teil zersetzt.

Es sollte daher versucht werden, das aus 4 durch bakterielle Dehydrierung gewonnene 5 auf anderem Wege zu reinigen. Es wurde versucht, und dies mit Erfolg, reines 5 durch säulenchromatographische Trennung des Dehydrierungsgemisches zu gewinnen.

2. BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

2.1. BAKTERIELLE DEHYDRIERUNG VON meso-ERYTHRIT

In Anlehnung an die von R.L. WHISTLER und L.A. UNDERKOFLER (1938) publizierte Vorschrift wurde ein Lyophilisat aus Acetobacter suboxydans (ATCC, Nr. 621) auf ein Medium aus 1000 ml Wasser, 3 g Pepton, 5 g Hefeextrakt, 25 g Mannit und 9 g Agar-Agar (ANONYMUS, 1970) überimpft und entsprechendes Wachstum erhalten. Die Reinkultur wurde bis zum Abschluß der Untersuchungen auf Schrägröhrchen mit dem gleichen Medium gehalten.

Zur Vorbereitung der Flüssigkeitskulturen wurde Acetobacter suboxydans auf einer Nährlösung aus 1000 ml Wasser, 5 g Hefeextrakt, 3 g Pepton und 25 g 4 angezüchtet. Nach 48 Stunden Bebrütung bei 28° wurden dann jeweils 10 ml Bakteriensuspension in 10 500-ml-Erlenmeyerkolben übertragen, die je 100 ml einer Nährlösung aus 1000 ml Wasser, 5 g Hefeextrakt, 30 g Calciumcarbonat und 47,85 g 4 enthielten. Diese Kulturen wurden bei 28° über 9Tage in einem Schüttelapparat bebrütet. Der Inhalt der 10 Kolben wurde vereinigt und mit 7,5 g Aktivkohle, 5 g Calciumcarbonat und 7,5 g Kieselgur versetzt, 15 min gerührt und dann 10 min bei 7000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde nach Zugabe von 5 g Aktivkohle nochmals zentrifugiert. Der nun erhaltene Überstand wurde erneut zentrifugiert und filtriert. Das Filtrat wurde am Rotationsverdampfer[1)] auf etwa 100 ml eingeengt. Nach Zugabe von 300 ml Äthanol wurde filtriert, mit Wasser auf 478,5 ml aufgefüllt und verschlossen bei 0° aufbewahrt. 10 ml der erhaltenen Lösung entsprachen daher 1 g eines Gemischs aus 4 und 5.

---

1) Das Eindampfen erfolgte stets bei einer Badtemperatur von höchstens 35°.

2.2. CHROMATOGRAPHISCHE ISOLIERUNG VON L-ERYTHRULOSE

2.2.1. Vorbereitung der als stationäre Phase verwendeten Cellulose

Cellulosepulver (Nr. 123a der Fa. SCHLEICHER u. SCHÜLL GmbH) wurde gründlich mit destilliertem Wasser gewaschen, an der Luft getrocknet und durch ein handelsübliches Mehlsieb gerührt. Anschließend wurde i.Vak. über Calciumchlorid getrocknet und kurz vor der Verwendung nochmals gesiebt.

2.2.2. Vorbereitung der Trennsäule

Eine Chromatographiesäule[1] (Innendurchmesser: 3 cm) wurde mit 56,2 bis 62,6 g des nach 2.2.1. vorbehandelten Cellulosepulvers trocken gestopft. Das Säulenbett war dann zwischen 24,5 und 25,5 cm hoch. Nach Waschen der Säule mit mindestens 500 ml eines Gemischs aus Benzol[2], Pyridin[2] und Wasser (V:V:V = 6:6:1) ließ man das Fließmittel so weit ablaufen, daß die Cellulose gerade noch bedeckt war.

2.2.3. Chromatographie

Etwa 5 ml der nach 2.1. gewonnenen Lösung wurden am Rotationsverdampfer so weit wie möglich eingedampft. Der Rückstand, der nach dem Trocknen über Calciumchlorid zwischen 0,503 und 0,529 g wog, wurde in einem Gemisch aus 1 ml Benzol[2], 4 ml Pyridin[2] und 2 ml Wasser gelöst und die erhaltene Lösung vorsichtig auf die Säule gegeben. Man ließ die Lösung möglichst weit einsickern, spülte die Wandung mit wenig Fließmittel ab, ließ dieses wiederum einsickern und setzte nun einen mit Fließmittel gefüllten Vorratstrichter[1] auf. Mit Hilfe eines Fraktionssammlers wurden nun Fraktionen von etwa 5 ml gesammelt.

---

1) Die Chromatographiesäule (oberes Ende: Normalschliff 29) und der Vorratstrichter (mit Normalschliff 29) waren mit Teflonhähnen ausgestattet, um Verunreinigungen mit Hahnfett auszuschließen.

2) Benzol (reinst) und Pyridin (reinst) der Fa. E. MERCK AG wurden vor der Verwendung destilliert.

2.2.4. Identifizierung der Fraktionen

Aus jeder Fraktion wurde ein Tropfen auf Chromatographiepapier (Nr. 2043b Mgl der Fa. SCHLEICHER u. SCHÜLL GmbH) gebracht. Dann besprühte man mit einer 0,1-prozentigen wäßrigen Lösung von Natriummetaperjodat und 5 min später mit einer Lösung von 2,8 g Benzidin in einem Gemisch aus 80 ml Äthanol, 70 ml Wasser, 30 ml Aceton und 1,5 ml N Salzsäure (E. MERCK AG). Die 4 und/oder 5 enthaltenden Fraktionen ergaben helle Flecke auf blauem Grund, während bei den nur Fließmittel enthaltenden Fraktionen die weißen Flecke fehlten. Proben der Kohlenhydrat enthaltenden Fraktionen wurden papierchromatographisch (Papier: wie oben; Fließmittel: wie bei 2.2.2.; Sprühmittel: wie oben) untersucht, woraus sich erkennen ließ, ob 4, 5, oder beide Verbindungen vorhanden waren. Auf diesem Wege konnten die Fraktionen zu 5 Gruppen zusammengefaßt werden.

Gruppe A: nur Fließmittel enthaltende Fraktionen;
Gruppe B: nur 5 enthaltende Fraktionen;
Gruppe C: nur Fließmittel oder Gemische aus 4 und 5 enthaltende Fraktionen;
Gruppe D: nur 4 enthaltende Fraktionen;
Gruppe E: nur Fließmittel enthaltende Fraktionen.

2.2.5. Weiterverarbeitung der zu den Gruppen A und E gehörenden Fraktionen

Die Fraktionen wurden mit den bei 2.2.6., 2.2.7. und 2.2.8. anfallenden Destillaten vereinigt und destilliert. Die Weiterverarbeitung dieses als Lösung F bezeichneten Destillates wird in Abschnitt 2.4. geschildert.

2.2.6. Gewinnung von L-Erythrulose

Die Fraktionen der Gruppe B wurden vereinigt und eingedampft. Die Weiterverarbeitung des Destillates wird bei 2.4. geschildert. Der Rückstand wurde in wenig Wasser gelöst und unter einem Stickstoffdruck von 7-8 at durch ein Membranfilter (Typ SM 12136 der Fa. SARTORIUS Membranfilter GmbH) gepreßt, um

kleine Mengen an Cellulose abzufiltrieren. Das Filtrat wurde eingedampft und i.Vak. über Diphosphorpentoxid getrocknet. Man erhielt reines 5 (papierchromatographisch geprüft) als hellgelben Sirup.

2.2.7. Aufarbeitung der zur Gruppe C gehörenden Fraktionen

Die Aufarbeitung erfolgte, falls die Fraktionen Gemische aus 4 und 5 enthielten, wie bei 2.2.6.. Die Weiterverarbeitung des Destillates wird bei 2.4. geschildert. Der Rückstand, ein teilweise kristallisierender Sirup, konnte wieder bei 2.2.3. eingesetzt werden. Enthielten die zur Gruppe C gehörenden Fraktionen nur Fließmittel, so wurde wie bei 2.2.5. verfahren.

2.2.8. Aufarbeitung der zur Gruppe D gehörenden Fraktionen

Die Aufarbeitung erfolgte wie bei 2.2.6.. Die Weiterverarbeitung des Destillates wird bei 2.4. geschildert. Das schon beim Eindampfen auskristallisierende 4 (Schmp. und Misch-Schmp. mit authentischem 4: 120°) konnte bei 2.1. wieder eingesetzt werden.

2.3. EIGENSCHAFTEN DER GEWONNENEN L-ERYTHRULOSE

2.3.1. Drehvermögen

Die spezifische Drehung des nach 2.2.6. gewonnenen 5 beträgt: $[\alpha]_D^{20}$ = +6,7° (15 min) → +13,3° (48 Stdn.), c = 2,25, Wasser.

2.3.2. Bildung von L-Erythrulose-phenylosazon

Eine Spatelspitze des nach 2.2.6. gewonnenen 5 wurde in wenig Wasser gelöst. Nach Zugabe einiger Tropfen Phenylhydrazin wurde 2N Essigsäure zugetropft, bis eine klare Lösung entstanden war. Dann wurde 20 min im siedenden Wasserbad erhitzt. Beim Erkalten, manchmal erst einige Stunden später, fiel das Osazon in Form großer gelber Flocken aus. Nach Absaugen, Trocknen und Umkristallisieren aus heißem Benzol

(O. RUFF, 1899) erhielt man L-Erythrulose-phenylosazon in Form gelber Nadeln, die bei 165-169° schmolzen. Das Gemisch mit einem aus D-Erythrose gewonnenen Präparat von D-Erythrose-phenylosazon (hergestellt von H.J. HAAS und A. SEELIGER, 1964) zeigte keine Schmelzpunktsdepression.

2.3.3. Bildung von L-Erythrulose-o-nitrophenylhydrazon

Das entsprechend den Angaben von H. MÜLLER, C. MONTIGEL und T. REICHSTEIN (1937) hergestellte Präparat zeigte einen Schmelzpunkt von 150°.

2.3.4. Reaktion mit Ninhydrin

Beim Erhitzen einer wäßrigen Lösung des nach 2.2.6. gewonnenen 5 mit Ninhydrin entwickelte sich, in Übereinstimmung mit den Angaben von C.L. HU, V.V. RENDIG und E.A. McCOMB (1965) eine Violettfärbung.

2.3.5. Reaktion mit fuchsinschwefliger Säure

Beim Versetzen einer wäßrigen Lösung des nach 2.2.6. gewonnenen 5 mit fuchsinschwefliger Säure entwickelte sich eine Rotfärbung.

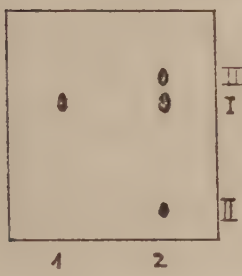
2.3.6. Zersetzung

Papierchromatogramme wäßriger Lösungen des nach 2.2.6. frisch bereiteten 5 zeigten nach Anwendung verschiedener mobiler Phasen und Besprühen mit verschiedenen Sprühlösungen stets nur einen einzigen, 5 entsprechenden Fleck, (vgl. Abbildung 1). Dagegen ergaben sich nach Papierchromatographie (mobile Phase: wie bei 2.2.2.) älterer Präparate von 5 und Besprühen mit einer Lösung von 0,93 g Anilin und 1,66 g Phthalsäure in 100 ml wassergesättigtem n-Butanol (E. MERCK AG) und 10 min Erwärmen auf 105° neben dem bräunlichen, unter einer UV-Lampe (254 nm) deutlich erkennbaren, 5 entsprechenden Fleck (I in Abb. 1) zwei weitere Flecke (II und III in Abb. 1) die ebenfalls unter der UV-Lampe besonders deutlich zu sehen waren. 5 zersetzt sich kontinuierlich, denn nach monatelangem Stehen war Fleck III schon bei Tageslicht und sogar deutlicher als Fleck I zu sehen. Der Fleck II läßt sich auch mit

den in Abschnitt 2.2.4. angegebenen Sprühreagenzien darstellen.

Wasser, Wärme, Licht und Luft scheinen die Zersetzung von 5 zu beschleunigen; deshalb empfiehlt es sich, 5 bei möglichst tiefer Temperatur, im Dunkeln und im Vakuumexsikkator aufzubewahren.

Abbildung 1: Schematische Darstellung eines Papierchromatogramms von 5.



1: nach 2.2.6. frisch dargestelltes 5.
2: 5, nach längerem Stehen.
I, II, III: siehe Text.
Papier: Nr. 2043b Mgl der Fa. SCHLEICHER u. SCHÜLL GmbH, Dassel
Fließ- und Sprühmittel: siehe Text.

2.3.7. Elementaranalyse

Gefunden:	C: 37,6%	H: 6,78%	
Berechnet:	C: 40,0%	H: 6,66%	für $C_4H_8O_4$
	C: 37,21%	H: 7,03%	für $C_4H_8O_4$ 0,5 H_2O

2.3.8. IR-Spektrum

Das Sektrum zeigt eine deutliche Bande bei 5,8 μ ($\tilde{\nu}$ = 1725 cm^{-1}).

2.4. ZURÜCKGEWINNUNG DES BEI 2.2. VERWENDETEN FLIESSMITTELS

Zu 20 ml Benzol wurde unter ständigem kräftigem Schütteln solange Lösung F gegeben, bis ein homogenes Gemisch vom Volumen V_B entstanden war.
Zu 2 ml Wasser wurde solange Lösung F gegeben, bis ein homogenes Gemisch vom Volumen V_W entstanden war.

In die Chromatographiegefäße 1) - 4) wurden gegeben:
1) 9 Teile V_B und 1 Teil V_W
2) 8 Teile V_B und 2 Teile V_W
3) 7 Teile V_B und 3 Teile V_W
4) 6 Teile V_B und 4 Teile V_W

In jedem der 4 Gefäße wurde nun ein Papierchromatogramm eines Gemisches aus 4 und 5 entwickelt und wie in 2.2.4. besprüht. Eines der Gemische 1) - 4) trennte optimal. Die Nummer dieses Gemisches wird in den Formeln 1 und 2 durch x repräsentiert.

Formel 1:

$$B = \frac{100 \cdot 20\ (10-x)}{V_B}$$

Formel 2:

$$W = \frac{100 \cdot 2x}{V_W}$$

B gibt die Menge destilliertes Benzol (in ml), W die Menge destilliertes Wasser (in ml) an, die vereinigt und mit Lösung F auf 1000 ml aufgefüllt werden. Das resultierende Fließmittel kann bei 2.2.2. und 2.2.3. verwendet werden.

3. DISKUSSION

Obwohl der Zeitaufwand und die erforderliche Fließmittelmenge bei verschiedenen säulenchromatographischen Trennungen stark differieren, ist die angegebene Vorschrift gut reproduzierbar, was sich u.a. an den fast übereinstimmenden Ausbeuten an 5 zeigt (Tabelle 1).

Tabelle 1: Drei Beispiele für säulenchromatographische Trennungen von 4 und 5.

Nr. des Versuchs	1	2	3
Cellulose [g]	58,0	62,6	56,2
Höhe des Säulenbettes [cm]	24,5	25,5	24,5
Zahl der Fraktionen (Gruppe A)	37	36	30
Gesamtvolumen [ml]	160	129	154
Zeit [min]	315	526	263
Zahl der Fraktionen (Gruppe B)	13	18	15
Gesamtvolumen [ml]	59	68	83
Zeit [min]	110	263	131
Zahl der Fraktionen (Gruppe C)	9	8	4
Gesamtvolumen [ml]	42	28	23
Zeit [min]	76	116	35
Zahl der Fraktionen (Gruppe D)	46	48	41
Gesamtvolumen [ml]	231	199	246
Zeit [min]	391	696	359
Eingesetztes Gemisch aus 4 und 5 [mg]	529	503	525
Reines 5 (aus Gruppe B) [mg]	127	122	124
Reines 4 (aus Gruppe D) [mg]	261	247	236
4 und 5 (aus Gruppe C) [mg]	-	-	15

Die Tatsache, daß die gefundene Isolierungsmethode weder chemische Umsetzungen noch thermische Behandlung des entstandenen 5 erfordert und der Befund, daß die spezifische Drehung die in Tabelle 2 angegebenen, von anderer Seite ermittelten Werte übertrifft, läßt annehmen, daß hier ein reineres Präparat vorliegt. Die von G. BERTRAND (1904) beobachtete Muta-

Tabelle 2: Verfahren zur Darstellung von L-Erythrulose durch bakterielle Dehydrierung von meso-Erythrit.

Autor	Abtrennung	Ausbeute	Schmelzpunkt Phenyl-osazon	Schmelzpunkt o-Nitro-phenyl-hydrazon	$[\alpha]_D$ (in Wasser)	Zeitbedarf ca.
BERTRAND (1904)	a) über Bisulfit-addukt b) durch frakt. Fällung mit Äthanol/Äther	?	174°		a) +7,55° (10 min) →+10,5° (14 Stdn.) b) ca.+12° (c = 10,84, Temp.: 20°)	25 Tage
MÜLLER et al. (1937)	a) über o-Nitro-phenylhydrazon b) Destillation	20%		152-153° 1)	+11,4 ±1° (c = 2,37, Temp.: 18°)	15 Tage
WHISTLER et al. (1938)	a) durch frakt. Fällung mit Äthanol/Äther b) Destillation	83%			+11,31 ±1° (c = 4,0, Temp.: 30°)	14 Tage
vorliegende Dissertation	Säulenchrom. an Cellulose	23%	165-169° 2)	150°	+6,7° (15 min) →+13,3° (48 Stdn.) (c = 2,25, Temp.: 20°)	15 Tage

1) korrigierter Schmelzpunkt. 2) Das von A. WOHL (1899) aus L-Erythrose hergestellte Präparat schmolz bei 163-164°, O. RUFF (1899) fand für D-Erythrose-phenylosazon den Schmelzpunkt 164°.

rotation konnte bestätigt werden, während die Arbeitsgruppen, die eine Vakuumdestillation zur Reinigung von 5 benutzten, keine Mutarotation fanden. Dies spricht dafür, daß destilliertes 5 möglicherweise Spuren organischer Säuren enthält, die, wie bekannt, Mutarotationen extrem beschleunigen. Es wäre aber auch denkbar, daß die Veränderung der Drehung auf andere Ursachen zurückzuführen ist. Dieser Frage soll später nachgegangen werden.

Das IR-Spektrum enthält eine Bande bei 5,8 µ, was zeigt, daß 5 eine Carbonylgruppe enthält.

Die Ausbeute an 5 ist höher als bei dem von MÜLLER et al. (1937) angegebenen Verfahren. Die von WHISTLER et al. (1938) mitgeteilte Ausbeute befremdet etwas. Die in der vorliegenden Arbeit beschriebene Dehydrierung von 4 erfolgte nämlich mit Hilfe des gleichen Bakteriums, das von WHISTLER et al. benutzt worden war, wobei überdies fast die gleichen Bedingungen eingehalten wurden. Für die Zuverlässigkeit der hier gefundenen Ausbeute an 5 spricht auch die Tatsache, daß durch die Säulenchromatographie immerhin fast 50% des eingesetzten 4 zurückgewonnen werden konnten. Auch ist es unerklärlich, wie das bakterielle Enzym das weit auf der Seite von 4 liegende Gleichgewicht zwischen 4 und 5 (W.B. JAKOBY und J. FREDERICKS, 1961) so verändern kann, daß eine fast quantitative Ausbeute an 5 entsteht.

Der Zeitaufwand für die in Abschnitt 2. angegebene Vorschrift zur Darstellung reiner L-Erythrulose ist etwa gleich groß wie der für die älteren Vorschriften. Er ist entsprechend geringer, wenn die Fraktionen der Gruppe C (2.2.4.) nur Fließmittel enthalten, da in diesem Fall auf die papierchromatographische Prüfung verzichtet werden kann.

4. ZUSAMMENFASSUNG

Durch Dehydrierung von meso-Erythrit mit Acetobacter suboxydans (ATCC 621) und angeschlossene Säulenchromatographie an Cellulose (mobile Phase: Benzol, Pyridin, Wasser; V:V:V = 6:6:1) erhält man chemisch reine L-Erythrulose als Semihydrat (elementaranalytisch sowie papierchromatographisch geprüft) mit einer Ausbeute von 23% d.Th. sowie nicht umgesetzten meso-Erythrit (45-50% d.Th.), der für weitere Dehydrierungen eingesetzt werden kann

Das zur Trennung verwendete Fließmittel kann nach Destillation und Anreicherung mit berechneten Mengen an Wasser und an Benzol für weitere säulenchromatographische Trennungen wiederverwendet werden.

5. LITERATUR

ANONYMUS	ATCC, Catalogue of Strains, 9. Aufl. 1970, Anhang 4
BERTRAND, G.	Sur l'oxydation de l'érythrite par la bactérie du sorbose; production d'un nouveau sucre: l'érythrulose. Compt. rend. 130, (1900): 1330-1333
BERTRAND, G.	Etude biochimique de la bactérie du sorbose. Ann. chim. phys. [8] 3, (1904): 181-288
DICKENS, F. and WILLIAMSON, D.H.	Formation of erythrulose from hydroxypyruvate in the presence of yeast carboxylase. Nature 178, (1956): 1349-1350
GRETH, R.	Modellversuche zur Eliminierung von Ammoniak durch Ketosen. Dissertation, Medizinische Fakultät der Universität des Saarlandes, Homburg, 1972
HAAS, H.J. und SEELIGER, A.	Dünnschichtchromatographie von Zuckerphenylosazonen. J. Chromatog. 13, (1964): 573-574
HANN, R.M., TILDEN, E.B. and HUDSON, C.S.	The oxidation of Sugar Alcohols by Acetobacter suboxydans. J. Am. Chem. Soc. 60, (1938): 1201-1203
HU, C.L., RENDIG, V.V. and McCOMB, E.A.	Evidence for the ninhydrin-positive reaction of some ketoses. J. Chromatog. 19, (1965): 622-623
JAKOBY, W.B. and FREDERICKS, J.	Erythritol-Dehydrogenase from Aerobacter aerogenes. Biochim. Biophys. Acta 48, (1961): 26
JAKOBY, W.B.	2,3-cis-Polyoldehydrogenase. Methods in Enzymology 9, (1966): 193-196

KIHACHIRO UEHARA, KOICHI SUGENO and TADASHI MIZOGUCHI
D-Tetrose metabolism. I. Purification of D-erythrose and preparation of D-erythrulose.
J. Vitaminolog. (Kyoto) 9, (1963): 201-205; zit. nach: Chem. Abstr. 61, (1964): 5951 d

LINEK, K., FEDERONKO, M. und BAUER, S.
Tschechoslowakisches Patent Nr. 131 277 vom 15. Februar 1969; zit. nach:Chem. Abstr. 72, (1970): 101058 s

MERCK, E. AG
Anfärbereagenzien für Dünnschicht- und Papierchromatographie.
Seiten 3 u. 5

MÜLLER, H., MONTIGEL, C. und REICHSTEIN, T.
Reine L-Erythrulose (L-2-Keto-tetrose).
Helv. chim. acta 20, (1937): 1468-1473

RUFF, O.
Erythrose.
Ber. dtsch. chem. Ges. 32, (1899): 3672-3681

STANKOVIC, L. and FEDERONKO, M.
Oxidation of erythritol, D-threitol, erythro-2,3- and threo-2,3-butanediols respectively, by mercury(II)acetate.
Chem. Zvesti, 25, (1971): 441-444; zit. nach: Chem. Abstr. 76, (1972): 46424 p

WHISTLER, R.L. and UNDERKOFLER, L.A.
The Production of L-Erythrulose by the Action of Acetobacter suboxydans upon Erythritol.
J. Am. Chem. Soc. 60, (1938): 2507-2508

WOHL, A.
Abbau der L-Arabinose.
Ber. dtsch. chem. Ges. 32, (1899): 3666-3672

D A N K

Herrn Professor Dr. H.J. HAAS danke ich für die Überlassung des Themas der vorliegenden Dissertation, für seine stets bereitwillige Unterstützung und besonders für sein erfolgreiches Bemühen, in seiner Umgebung ein wissenschaftlich-nüchternes und zugleich persönliches Klima zu verbreiten.

Herrn Professor Dr. SCHWEISFURTH (Institut für Hygiene und Mikrobiologie im Fachbereich 4 der Universität des Saarlandes) danke ich für die freundliche Hilfe bei dem mikrobiologischen Teil der Arbeit.

Herrn Dr. W. MARKS (Fachrichtung Organische und Instrumentelle Analytik im Fachbereich 15 der Universität des Saarlandes) bin ich für die Durchführung der Elementaranalyse zu Dank verpflichtet.

Für die Aufnahme des IR-Spektrums danke ich Frl. R. GRÜNNAGEL (Institut für Rechtsmedizin im Fachbereich 4 der Universität des Saarlandes).

L E B E N S L A U F

Am 28. Januar 1948 wurde ich als Sohn des Alfred Matz und seiner Ehefrau Valerie, geb. Prosser, in Schenklengsfeld/ Hessen geboren.

Von 1954 bis 1958 besuchte ich die katholische Volksschule in Schafbrücke bei Saarbrücken und von 1958 bis 1967 das Staatliche Ludwigsgymnasium in Saarbrücken, wo ich im Juli 1967 die Reifeprüfung ablegte.
Vom Wintersemester 1967/68 bis zum Wintersemester 1973/74 studierte ich an der Universität des Saarlandes Medizin. 1968 bestand ich die Naturwissenschaftliche Vorprüfung, 1970 die Ärztliche Vorprüfung und im Juli 1974 die Ärztliche Prüfung.